

Aus dem Institut für
Experimentelle Therapie und Funktionelle Pathologie
(Direktor: Prof. Dr. Dr. Dr. G. Schützler)
und der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere
(Direktor: Prof. Dr. L. Felix Müller)
der Freien Universität Berlin

Untersuchung über den Hämatokrit
des Sternalpunktates beim Hund

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Heide Robl
geb. Klünder
Tierärztin aus Berlin
Berlin 1969
Journal-Nr. 676



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für
Experimentelle Therapie und Funktionelle Pathologie
(Direktor: Prof. Dr. Dr. Dr. G. Schützler)
und der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere
(Direktor: Prof. Dr. L. Felix Müller)
der Freien Universität Berlin

Untersuchung über den Hämatokrit
des Sternalpunktates beim Hund

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Heide Robl
geb. Klünder
Tierärztin aus Berlin
Berlin 1969
Journal-Nr. 676

Gedruckt mit Genehmigung
der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. K. Bronsch
Referent: Prof. Dr. H. Niepage
Korreferent: Prof. Dr. L. Felix Müller

Tag der Promotion: 9. Juli 1969



Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	5
II. Schrifttum	7
III. Eigene Untersuchungen	
A. Material und Methode	10
B. Durchführung der Untersuchung . .	14
IV. Besprechung der Befunde	32
V. Zusammenfassung	37
VI. Schrifttumsverzeichnis	42

I. Einleitung

Die Zentrifugierung des ungerinnbar gemachten Blutes hat sich als eine Methode der Blutuntersuchung bewährt und ist als Hämatokrit-Verfahren Bestandteil der hämatologischen Routine geworden. Das Hämatokrit-Verfahren zeichnet sich dadurch aus, daß es technisch einfach und durch die konstanten Bedingungen der Zentrifugierung leicht standardisierbar ist. Durch die Verwendung von Kapillaren in hochoberigen Zentrifugen läßt sich die Blutmenge gering und die Zeit des Schleuderns kurz halten. Darüber hinaus wird ein systematischer Fehler der Methode, der darin besteht, daß ein Teil des Blutplasmas sich von den korpuskulären Elementen nicht trennt (trapped plasma), so klein, daß er praktisch vernachlässigt werden kann. Als Ergebnis liefert der Hämatokrit nicht nur die prozentualen Volumenanteile der nach dem spezifischen Gewicht getrennten Blutkomponenten Erythrocyten, Leukocyten und Blutplasma, sondern ermöglicht auch die Beurteilung von Farbe und Transparenz des Plasmas, weist unter Umständen durch eine vom Normalen abweichende Schichtung auf Besonderheiten der cytologischen Zusammensetzung des Blutes hin und ermöglicht, sofern Objektträgerausstriche der interessierenden Schichten gemacht werden, eine genaue mikroskopische Untersuchung.

Es liegt nahe, den Versuch zu machen, das Hämatokrit-Verfahren auch auf Knochenmarkspunktate anzuwenden. Das Punktat hat prinzipiell die gleichen Komponenten wie das Blut. Die übliche Beurteilung des Knochenmarkspunktates beschränkt sich im wesentlichen auf die mikroskopische Untersuchung der Zellen im gefärbten Ausstrich. Ihre morphologischen Kriterien und das prozentuale Mengenverhältnis der kernhaltigen Zellen zueinander werden bestimmt. Man sollte erwarten, durch den Hämatokrit zusätzlich über den Anteil des Plasmas und der Erythrocyten etwas zu erfahren und hätte die Möglichkeit, bei Anreicherung bestimmter Zellarten in bestimmten Schichten diese durch gesondertes Ausstreichen in großer Menge für die mikroskopische

Untersuchung zur Verfügung zu haben.

Da unseres Wissens beim Hund derartige Untersuchungen bisher nicht durchgeführt wurden, sind sie in der vorliegenden Arbeit in Angriff genommen worden.

II. Schrifttum

Am Ende der dreißiger Jahre hatte die Sternalpunktion in der von A r i n k i n (1929) angegebenen Weise als diagnostisches Verfahren Eingang in die Humanmedizin gefunden. W i n t r o b e hatte 1930 das Hämatokrit-Verfahren durch die Anwendung von dickwandigen Röhrchen zu einer Routinemethode der Blutuntersuchung entwickelt. In der Folgezeit wurden von humanmedizinischer Seite aus mehrfach Untersuchungen angestellt, die zum Ziel hatten, die Hämatokrit-Methode in Verbindung mit der Sternalpunktion zur Beurteilung der Knochenmarksfunktion heranzuziehen. Die ersten Arbeiten dazu stammten von S c h l e i c h e r und S h a r p (1937) und L i m a r z i (1939). Von den vier Schichten, die sich bei der Zentrifugation des Sternalpunktates im Hämatokrit-Röhrchen absetzen, interessierte besonders die der untersten, aus Erythrocyten bestehenden unmittelbar aufsitzende Schicht der kernhaltigen Knochenmarkszellen, die als "myeloid-erythroid volume" (ME) bezeichnet wurde. Aber auch die Menge und die Farbe der auf der Plasmazone zu oberst liegenden Fettschicht wurde auf ihre diagnostische Aussagekraft hin geprüft.

J. i m a r z i und S c h l e i c h e r (1940) gaben als Normwert der ME - Schicht des Menschen 5,5 % an. Sie sahen in der Zunahme des Anteils der kernhaltigen Knochenmarkszellen auf 9 bis 21 % bei akuter und chronischer Haemorrhagie ein Merkmal der Aktivierung des Knochenmarkes, die durch Steigerung der Erythro-, Granulo- und Thrombopoiese zustande kam. Sie konnten an vier Fällen von essentieller thrombopenischer Purpura zeigen, daß auf 6,5, 12,0, 24,0 und 41,0 % erhöhte Werte der ME - Schicht nach der bei diesen Patienten aus therapeutischen Gründen erfolgten Milzexstirpation auf 5,0, 8,0, 10,0 und 16,0 % zurückgingen und erklärten dieses Ergebnis mit dem Ausfall eines die Zellreifung im Knochenmark hemmenden Faktors der Milz. J o n e s beschrieb 1940 eine Zunahme der ME -

Schicht bei Hyperthyreose und bei Myxödem eine Abnahme derselben.

Nach S c h l e i c h e r (1944) besteht im Knochenmark unter normalen Umständen ein Gleichgewicht zwischen den Anteilen von Fett, Sinusblut und blutbildendem Gewebe, das sich in den Volumensverhältnissen des Knochenmarkshämatokrit widerspiegelt. Bei Aspiration von jeweils 1 ml Punktat, das mit Heparin versetzt wurde, stellte er als mittlere Werte bzw. Normbereiche für das Knochenmark des Menschen fest: Fett 1 % (0,5 - 3 %), Plasma 50 % (45 - 54 %), ME - Schicht 5 % (4 - 6 %) und Erythrocytenschicht 44 % (39 - 48,5 %). S c h l e i c h e r wies darauf hin, daß das Blutbild nicht notwendigerweise ein Spiegelbild der Verhältnisse im Knochenmark sein muß und hielt den Knochenmarkshämatokrit für sich allein als Markuntersuchung für nicht ausreichend.

Einen Vergleich zwischen der Fettschicht des Knochenmarkshämatokrit und der im histologischen Knochenmarksschnitt planimetrisch bestimmten Fettmenge führten B e r m a n und A x e l - r o d (1947) durch. Sie fanden eine sichere Korrelation, bei der 2 % Fett im Hämatokrit etwa 35 % Fettfläche im Knochenmarksschnitt entsprachen. Die Streuung war allerdings erheblich. Die Autoren gaben dem histometrischen Verfahren den Vorzug. Zusammen mit H o r a n , J a c o b s o n , S h a r p und V o n d e r H e i d e konnten sie 1949 an 23 Fällen von Lebercirrhose keine deutlich krankheitsbezogenen Veränderungen an Fett- und ME - Volumen des Knochenmarkshämatokrit feststellen.

M a r m o n t und F u s c o (1951) untersuchten 80 Sternalpunktate von 6 Normalpersonen und 50 Patienten mit der Hämatokrit-Methode. Sie fanden eine Zunahme der ME - Schicht bei Leukämien, eine Abnahme bei aplastischen Zuständen des Knochenmarkes und wiesen darauf hin, daß bei hämolytischen Anämien und bei Perniciosa die Schicht der kernhaltigen Zellen und oft auch die Fettschicht einen rötlichen Farbton aufweist.

In allen diesen Untersuchungen wurde das W i n t r o b e -

Verfahren für den Knochenmarkshämatokrit verwendet, bei dem etwa 0,5 ml Punktat zur Füllung des Röhrchens notwendig sind. Nur Unregelmäßigkeiten der Schichtung finden sich keine Angaben.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß nach den Literaturangaben der Knochenmarkshämatokrit beim Menschen als technisch einfaches Verfahren praktikabel ist und einen orientierenden Einblick in die Zusammensetzung des Punktates ergibt, soweit sie Erythrocyten, haematopoietische Zellen, Plasma und Fett betrifft. R o h r (1960) weist in einem Überblick darauf hin, daß zwar Fälle vorkommen, bei denen Regenerationsherde oder pathologische Infiltrate im Knochenmark unregelmäßig lokalisiert sind, so daß es vom Zufall der Punktionsrichtung abhängt, ob sie im Punktat erfaßt werden oder nicht, daß jedoch in der Regel das Knochenmark einheitlich reagiert und das Punktat dann als repräsentativ gelten kann. Nach R o h r muß jedoch beachtet werden, daß die relative Menge der kernhaltigen Zellen nicht allein für die Beurteilung der Regenerationsleistung des Markorgans von Bedeutung ist, sondern daß es auch auf den Reifungszustand der blutbildenden Zellen ankommt.

Die unvermeidliche, mehr oder weniger reichliche Beimischung von Sinusblut im Punktat, in dem sich die vom Parenchym abgegebenen ausschwemmungsfähigen, d. h. reiferen Zellen befinden, kann den Untersucher über den Reifungszustand des Markorgans täuschen. Es ist deshalb unerlässlich, zur Beurteilung des Punktates die darin enthaltenen Parenchympartikel im Ausstrich zu untersuchen. Als ergänzendes Orientierungsverfahren wird der Knochenmarkshämatokrit jedoch, nicht zuletzt wegen des geringen Aufwandes, empfohlen.

III. Eigene Untersuchungen

A. Untersuchungsmethoden

Da methodische Untersuchungen einen Teil der Arbeit ausmachen und die dabei gemachten Erfahrungen den Verlauf der Untersuchung beeinflussen, werden Einzelheiten im Kapitel "Befunde" mitgeteilt. Hier wird lediglich über das Grundsätzliche der angewandten Verfahren berichtet.

Knochenmarkspunktion

Die Knochenmarkspunktion wurde in Anlehnung an das von H o r n , J a h n und W i l l e (1953) angegebene Verfahren am Sternum des Hundes durchgeführt. Größere Hunde wurden im Sitzen, kleinere in Rückenlage punktiert. Als Kanüle diente das auch in der Humanmedizin gebräuchliche Modell von K l i m a - R o s e g g e r . Die Aspiration erfolgte mit einer 10-ml-Nylon-Spritze, die wegen des transparenten Konus den Vorteil bietet, das Einfließen von Marksaft sofort zu erkennen, wenn er die Kanüle verläßt. Zur Verhütung der Gerinnung des Aspirates wurde eine geringe Menge von Heparin-Natrium als Pulver in die Spritze gegeben.

Hämatokrit

Es wurde das Mikrohämatokrit-Verfahren angewendet. Eine kleine Zentrifuge der Firma PHYWE stand zur Verfügung, die für drei Minuten auf 15 000 U/min gebracht wurde. Als Röhrchen dienten Kapillaren aus Glas oder Kunststoff von 5 cm Länge, die im Verlauf der Untersuchungen auf verschiedene Weise verschlossen wurden. Die zentrifugierten Kapillaren wurden makroskopisch in Bezug auf die Art der Schichtung sowie Farbe und Transparenz der Schichten beurteilt. Die Höhe der einzelnen Schichten wurde mit einem gewöhnlichen Lineal gemessen und zur Berechnung der prozentualen Volumenanteile benutzt. Außerdem wurden von der Schicht der kernhaltigen Zellen mikroskopische Präparate angefertigt. Dazu wurde ein auf einer Seite mit Gummi

bespanntes Röhrchen verwendet, auf dessen anderer Seite sich ein Schlauch zum Ansaugen befand. Die oberhalb der zu untersuchenden Schicht abgeschnittene Kapillare wurde mit dem anderen Ende in die Gummimembran gesteckt und die Schicht vorsichtig auf einen Objektträger ausgeblasen (Abb. 1). Danach

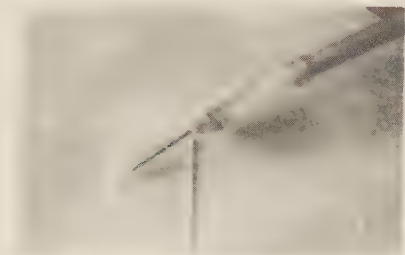


Abb. 1
Übertragen einer Schicht
des Knochenmarkshämatokrit
auf einen Objektträger

wurde das Material nach Art des Blutausstriches verteilt und nach 24stündiger Lufttrocknung nach P a p p e n h e i m gefärbt.

Blutstatus

Von jedem der untersuchten Hunde wurden ein oder mehrere Sternalpunktate entnommen sowie Venenblut für einen Blutstatus. Dieser umfaßte die Kammerzählung der Erythrocyten und Leukocyten, die Hämoglobinbestimmung über Cyan-Methämoglobin mit dem Eppendorf-Photometer, die Differenzierung des Blutausstriches sowie die Bestimmung der Reticulocytenzahl pro 1000 Erythrocyten in einem Ausstrich, der aus einer Mischung aus 1 Tropfen Blut und 1 Tropfen Brillantkresylblau nach halbstündiger Inkubation hergestellt wurde. Außerdem wurde die Blutkörperchensenkung nach W e s t e r g r e n durchgeführt.

Material

Das Untersuchungsmaterial stammt von insgesamt 28 Hunden, und zwar von 14 klinisch gesunden Versuchshunden und 14 kranken Hunden (Patienten der Klinik für kleine Haustiere).

Versuchshunde

Schäferhund-Bastard, 2 Funktionen, (Nr. 9, 17)

♀ , 8 Jahre

Schäferhund-Bastard, 2 Funktionen, (Nr. 11, 20)

♂ , ca. 4 Jahre

Schäferhund-Bastard, 3 Funktionen, (Nr. 12, 18, 21)

♀ , 3/4 Jahre

Schäferhund-Bastard, 2 Funktionen, (Nr. 15, 22)

♀ , 3/4 Jahre

Schäferhund-Bastard, 1 Funktion, (Nr. 16)

♀ , 3/4 Jahre

Schäferhund-Bastard, 1 Funktion, (Nr. 13)

♀ , 3/4 Jahre

Schäferhund-Bastard, 1 Funktion, (Nr. 14)

♀ , 3/4 Jahre

Beagle, 2 Funktionen, (Nr. 10, 19)

♂ , 4 Jahre

Hovawart-Bastard, 5 Funktionen, (Nr. 28, 30, 35, 38, 40)

♀ , ca. 8 Jahre

Bastard, 6 Funktionen, (Nr. 26, 27, 29, 34, 37, 39)

♀ , ca. 10 Jahre

Beagle, 1 Funktion, (Nr. 36)

♀ , 4 Jahre

Beagle, 1 Funktion, (Nr. 31)

♀ , 4 Jahre

Beagle, 1 Funktion, (Nr. 32)

♀ , 3/4 Jahre

Beagle, 1 Funktion, (Nr. 33)

♀ , 3/4 Jahre

Kranke Hunde

Bastard,

♂ , 9 Jahre

schlechtes Allgemeinbefinden, starker Ikterus, T. 39.8; hämolytische Anämie; seit 3 Tagen Bluttransfusionen; 1 Funktion (Nr. 42)

Schäferhund,

♂ , 9 Jahre

schlechtes Allgemeinbefinden 7 Tage nach Milzexstirpation, schlechte Wundheilung, T. 39.8; Milztumor, Prostatahypertrophie; 1 Funktion (Nr. 43)

- Schäferhund-Bastard, schlechtes Allgemeinbefinden 11 Tage nach
♀ , 9 Jahre
Hysterektomie und Ovariectomie, Vomitus,
Diarrhoe, Apathie, T. 37.5; Azotämie;
1 Punktion (Nr. 44)
- Boxer,
♂ , 5 Jahre
Kachexie, Apathie, Vomitus seit 18 Tagen,
T. 38.2; vermutlich Tumor der Nebenschilddrüse; 1 Punktion (Nr. 45)
- Pudel,
♂ , 8 Jahre
Apathie, wechselnd steifbeiniges Laufen und ataktische Bewegungen, häufiges Hinfallen, Vomitus seit 2 Wochen; 1 Punktion (Nr. 46)
- Teckel,
♂ , ca. 5 Jahre
Apathie, Petechien am Zahnfleisch, T. 38.6; Thrombopenie; 1 Punktion (Nr. 47)
- Airedale,
♂ , 4 Jahre
Apathie, Ataxie, T. 37.6; Morbus Addison; 1 Punktion (Nr. 48)
- Basset,
♂ , 2 Jahre
Apathie 4 Tage nach Fremdkörperoperation, T. 39.1; Thallium-Vergiftung; 1 Punktion (Nr. 49)
- Fox-Terrier,
♂ , 4 Jahre
zentral-nervöse Störungen, blutige Diarrhoe, T. 38.8; Staupeverdacht; 1 Punktion (Nr. 50)
- Terrier-Bastard,
♂ , 5 Monate
Apathie 8 Tage nach Verkehrsunfall, offene Wunde am Hinterlauf, Haut löst sich auch an unverletzten Stellen völlig vom Bein ab, darunter schmierige Muskulatur-Oberfläche, T. 39.7; 1 Punktion (Nr. 51)
- Schäferhund,
♂ , ca. 5 Jahre
Apathie 12 Stunden nach Fremdkörper-Operation, T. 39.8; eitrige Peritonitis; 1 Punktion (Nr. 52)
- Königspudel,
♂ , 8 Jahre
Apathie, Foetor ex ore, alle Lymphknoten vergrößert, T. 40.2; 1 Punktion (Nr. 53)
- Teckel,
♀ , ca. 6 Jahre
Kachexie, Apathie, Vomitus seit 2 Wochen, Diarrhoe seit 2 Tagen, T. 38.6; 1 Punktion (Nr. 54)

Schäferhund,
♂, 3 Jahre

am Vortag Amputation einer Vorderextre-
mität wegen Gangrän, T. 38.8; 1 Punktion
(Nr. 55)

B. Durchführung der Untersuchung

1. Vorversuche

— — — — — a.) Verschuß der Hämatokrit-Röhrchen

Vom Verschuß der Hämatokrit-Röhrchen ist zu fordern, daß er dem auf dem Boden lastenden Druck während des Zentrifugierens standhält, so daß es nicht zum Auslaufen des Inhaltes kommt. Ferner ist zu wünschen, daß die Oberfläche des Bodens rechtwinklig zu den Seitenwänden des Röhrchens verläuft, damit die für die Genauigkeit der Volumenbestimmung erforderliche zylindrische Form des Zentrifugates gewährleistet ist.

Das vielfach praktizierte Verfahren, nach der Füllung der Kapillare ein von Inhalt freigehaltenes Ende zuzuschmelzen, hat sich als ungenau erwiesen, weil durch die von den Seitenwänden fortgeleitete Hitze der nächstgelegene Anteil des Inhaltes verändert wird.

Am sichersten läßt sich die Kapillare verschließen, indem man sie vor der Füllung auf der Sparflamme des Bunsenbrenners zuschmilzt. Die Füllung hat anschließend mit Hilfe einer Spritze und aufgesetzter Kanüle, die in Weite und Länge der Kapillare angepaßt sein muß, zu erfolgen. Diese Methode eignet sich für Proben, bei denen soviel Material zur Verfügung steht, daß die unvermeidlichen Einfüllungsverluste nicht ins Gewicht fallen. Blut läßt sich gut auf diese Art behandeln; bei dem visköseren und oft mit Bröckchen durchsetzten Knochenmark kommt es leicht zur Verstopfung der notwendigerweise englumigen Kanüle, so daß für die vorliegende Untersuchung bald von dieser Methode des Kapillarverschlusses Abstand genommen wurde.

Eine speziell für den Verschuß von Hämatokrit-Kapillaren angebotene Masse (Seal-Ease der Firma Clay-Adams, New York),

in die das Röhrchenende eingetaucht wird, so daß ein Teil der Masse als Pfropf in der Kapillare zurückbleibt, befriedigte wenig. So liefen in einem Versuch von 12 Röhrchen 7 aus. Noch schlechter war das Resultat mit Knetgummi. Siegellack erwies sich als gänzlich ungeeignet, da der Lack beim Zentrifugieren absprang. Mit Uhu-hart ließ sich ein relativ zuverlässiger Verschuß erzielen (1 Versager bei 12 Röhrchen), jedoch war die zum Antrocknen notwendige Zeit mit einer Dreiviertelstunde zu lang.

Als bester Verschuß bewährte sich schließlich Fensterkitt (Leinöl-Firnis-Kitt). Durch mehrfaches Eindrücken in eine etwa 5 mm dicke, ebene Kittschicht läßt sich in der Kapillare ein 4 bis 7 mm hoher Pfropf erzeugen, der dem Röhrchen einen waagerechten Boden gibt. So verschlossene Kapillaren laufen, wenn der Kitt frisch, d. h. nicht eingetrocknet ist, nicht aus.

b.) Verwendung von Kunststoffschläuchen

Für die mikroskopische Untersuchung einzelner Hämatokrit-Schichten ist die Zerschneidung der Kapillaren an den entsprechenden Stellen Voraussetzung. Auf Grund der Vorstellung, daß das Brechen einer Glaskapillare nach Anritzen der Außenwand wenig genau durchführbar und auch wegen des dabei auftretenden Glasstaubes von Nachteil für den Ausstrich der Zellen sei, wurden Schläuche aus Polyvinylchlorid und Polyäthylen an Stelle von Glaskapillaren ausprobiert. Um ein Stauchen in der Zentrifuge zu vermeiden, wurden sie in einer Metallhülse auf den Rotor gelegt. Für beide Arten von Schläuchen war Fensterkitt als Verschuß gut brauchbar.

Es zeigte sich, daß im PVC-Schlauch keine einwandfreie Schichtung zu erzielen war, da eine Benetzung der Wand nicht erfolgte. Dagegen erwies sich der Polyäthylenschlauch der Firma PORTEX Portland Plastics LTD., England, mit einem Kaliber von 0,8 mm als prinzipiell geeignet und wurde zum Vergleich mit Glaskapillaren herangezogen.

c.) Herstellung von Anreicherungspräparaten

Im Gegensatz zu Blut, bei dem die Leukocyten-schicht des Hämatokrit sich leicht auf dem Objektträger austreichen läßt, stellen sich bei dem Versuch, die Schicht der kernhaltigen Zellen des Knochenmarkszentrifugates auszustreichen, Schwierigkeiten ein. Die Schicht verhält sich als zäh-elastische Masse, die sich nur schwer gleichmäßig auf dem Objektträger verteilen läßt. Die Zellen erweisen sich unter dem Mikroskop als viel zu dicht gelagert, um Einzelheiten erkennen zu können. Dazu kommt, daß regelmäßig eine große Menge von Erythrocyten beigemischt ist, die die Transparenz des Präparates beeinträchtigen. Einige Vorversuche galten dem Bemühen, diesen Umständen abzuhelpfen.

Zur exakten Gewinnung einzelner Schichten des Hämatokrit gibt P a r w a r e s c h (1968) ein Verfahren an, bei dem nach Abschneiden der unteren Kuppe des zentrifugierten Röhrchens dieses langsam in ein Gefäß mit Quecksilber eingetaucht wird, so daß die gewünschte Schicht allmählich durch das in das Röhrchen eindringende Quecksilber nach oben gedrückt wird, wo sie mit einem Objektträger abgenommen werden kann. Der Versuch, dieses Verfahren auf Mikrohämatokrit-Röhrchen anzuwenden, verlief negativ. In Kapillaren, die mit Hilfe eines Mikroskop-Triebes in das Quecksilber eingetaucht wurden, dringt das flüssige Metall zu langsam ein (5mm in 5 Minuten).

Einige Versuche, durch Saponin-Hämolyse die im Ausstrich störenden Erythrocyten auszuschalten, wurden an leukocytenreichem Blut durchgeführt. Die Leukocyten-schicht war bei Saponinzusatz um etwa 30 % geringer als sonst. Die mikroskopische Untersuchung zeigte, daß in den erythrocytenfreien Präparaten die Leukocyten morphologische Veränderungen (Quellung) erlitten hatten, so daß die Versuche nicht weiter verfolgt wurden.

Wegen der Möglichkeit, daß es sich bei den in der Schicht der kernhaltigen Zellen enthaltenen Erythrocyten nicht nur um Zellen handelt, die wegen des gleichen spezifischen Gewichtes dort abgelagert sind, sondern zum Teil auch um Erythrocyten, die beim Zentrifugieren in die sich sedimentierende Mittelschicht mit

"hineingerissen" werden, sollte durch ein Sedimentierungsverfahren mit dem hochpolymeren Zucker Ficoll^R (Molekulargewicht $\approx 400\,000$) versucht werden, eine möglichst erythrocytenfreie Mittelschicht zu erzielen. Dazu wurde aus einer Stammlösung von 50 g Ficoll in 100 ml Pufferlösung nach B o y d ($\text{NaCl } 90,0$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \text{ } 2,42$, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \text{ } 15,0$, $\text{NaF } 1,2$ in $1000,0$ Aqua dest.) eine Verdünnungsreihe mit dem gleichen Puffer hergestellt. In der Verdünnung 7 : 3 blieb die Mittelschicht des Hämatokrit oberhalb der Erythrocytensäule in der Schwebe. Auf einen Objektträger gebracht ergab sich jedoch bei der anschließenden Färbung, daß die Zellen auf dem Glas nicht hafteten, sondern abgeschwemmt wurden. Die Versuche mit Ficoll wurden daraufhin eingestellt.

Weitere Versuche, aus der Schicht der kernhaltigen Zellen des Hämatokrit eine einschichtige Lage auf dem Objektträger zu erzielen, waren ebenfalls nicht erfolgreich. So wurde der Objektträger, der den Zellverband mit einem Zusatz von Plasma enthielt, für eine Minute einer Vibration ausgesetzt, ohne daß die Zellen sich in nennenswerter Menge im Plasma verteilten. Auch die Verweildauer von 30 bis 60 Minuten in einer durch Bedecken des Objektträgers hergestellten feuchten Kammer ermöglichte keine zufriedenstellende Auflösung des Zellaggregates im zugesetzten Plasma.

Schließlich wurde in einer Serie die Zentrifugierungszeit zwischen 1 und 10 Minuten variiert. Dabei zeigte sich, daß die Sedimentation nach einer Minute noch sehr unvollkommen war. Nach 2 bis 3 Minuten Dauer der Zentrifugierung ist die Sedimentierung ausgeprägt (scharfe Grenzen). Die Zentrifugierung für 4 oder mehr Minuten verändert die Höhe der einzelnen Schichten nicht merklich. Für die Volumensbestimmung muß demnach etwa 3 Minuten bei 15000 U/min zentrifugiert werden. Das dabei bereits zustande kommende Zusammenhaften der kernhaltigen Zellen wurde in Kauf genommen.

2. Beschreibung des Knochenmarkshämatokrit

An der mit Knochenmarkspunktat gefüllten Kapillare lassen sich nach dem Zentrifugieren regelmäßig vier Schichten unterscheiden:

Die unterste rote, aus Erythrocyten bestehende Schicht (A); darüber eine grau-rötliche zundrige Zone, die sich aus kernhaltigen Zellen und Erythrocyten zusammensetzt (B). Auf dieser Schicht steht das Blutplasma als zellfreie, meist etwas rötlich gefärbte Flüssigkeit (C). Die oberste Schicht ist eine milchig-trübe Zone, sie enthält im wesentlichen das Fett des Punktates (D). (Abb. 2).

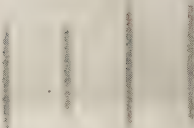


Abb. 2
Je zwei Knochenmarkshämatokrits
von zwei Sternalpunktaten

Von dieser Regel gibt es Abweichungen, wie folgende Übersicht zeigt, die auf Grund von 40 Sternalpunktaten bei 14 klinisch gesund erscheinenden Hunden an insgesamt 283 Hämatokrit-Röhrchen gewonnen wurde.

Die Farbe des Plasmas war in 216 Fällen schwach rosa, 17mal (3 Punktate) nur zart gelblich gefärbt und nur 50mal (7 Punktate) farblos, wie es die Regel beim Hämatokrit des Blutes ist. Das Plasma war in allen Fällen transparent bis auf 2 Punktate, (11 Hämatokrit-Röhrchen), bei denen im oberen Teil der Plasmasäule eine unscharf in die eigentliche fetthaltige Zone übergehende milchige Trübung vorlag, so daß die Höhe der Schicht D nicht exakt bestimmt werden konnte. In 61 Hämatokrit-Röhrchen von 13 Punktaten war über der Schicht D noch eine geringe Menge einer klaren farblosen Flüssigkeit abgesetzt. In einem

orientierenden Elektrophorese-Versuch färbte sie sich nicht an, so daß anzunehmen ist, daß es sich um eine eiweißarme oder eiweißfreie Flüssigkeit handelt. In 10 Hämatokrit-Röhrchen (2 Punktate) war die Schicht D im unteren Abschnitt rötlich gefärbt. Die Schicht der kernhaltigen Zellen (B) war bei 7 Punktaten (48 Hämatokrit-Röhrchen) zweigeteilt, indem ein Teil wie üblich direkt der Erythrocytenschicht A aufsaß, während ein anderer sich im Plasma schwebend hielt oder mit der Fettschicht D durchmischt war.

Nicht immer betrafen diese Abweichungen, die unter Umständen die Ablesung des Hämatokrit ungenau oder unmöglich machen können, sämtliche Hämatokrit-Röhrchen eines Punktates, sondern manchmal nur einzelne.

Legt man die von den Versuchshunden gewonnenen Häufigkeitsverteilungen der für die einzelnen Schichten abgelesenen Volumenprozentwerte zu Grunde, so ergeben sich als ungefähre Norm folgende Bereiche:

A 42 - 50 %; B 3 - 8 %; C 38 - 50%; D 1 - 5 %.

3. Quantitativer Vergleich des Knochenmarkshämatokrit im Poly- äthylenschlauch mit dem in der Glaskapillare

a.) Um die Brauchbarkeit der Zentrifugierung im Polyaethylen-schlauch als Hämatokrit-Verfahren zu prüfen, wurden bei 14 Ster-nalpunktaten Glaskapillaren und Polyaethylenschläuche neben-einander verwendet. Für die einzelnen Schichten A, B, C und D wurde die mittlere Differenz zwischen der Ablesung im Polyaethy-lenschlauch und in der Glaskapillare bestimmt und nach dem Ver-fahren des Vergleichs von Mittelwerten bei paarweiser Zuordnung der Einzelwerte (W e b e r) auf Signifikanz geprüft.

Es ergab sich

	mittlere Differenz ($\bar{d}$) (Polyaethylen - Glas)	P<
A	+ 1,00 %	0,05
B	- 1,37 %	0,01
C	+ 1,42 %	0,05
D	- 0,91 %	0,05

Demnach fallen die Erythrocytenschicht (A) und die Plasmaschicht (C) im Polyaethylenschlauch durchschnittlich etwas größer aus als in der Glaskapillare, während die Fettschicht (D) und die Schicht der kernhaltigen Zellen (B) dementsprechend prozentual von geringerer Höhe sind.

b.) Die Streuung der Werte verschiedener vom gleichen Punktat gleichzeitig zentrifugierter Hämatokrit-Röhrchen wurde für Polyaethylenschläuche aus 17 Versuchen (42 Hämatokrits) und für Glaskapillaren aus 30 Versuchen (141 Hämatokrits) als mittlere gewogene Abweichung berechnet:

	A	B	C	D
s (Polyaethylen)	2,52	1,31	1,38	1,46
s (Glaskapillare)	1,27	1,73	2,04	1,54

Der Unterschied der Streuungen ist signifikant für die Schicht A ($p < 0,01$) und die Schicht C ($p < 0,05$). Mithin ist die Höhe der Erythrocytensäule in der Glaskapillare genauer bestimmbar als im Polyaethylenschlauch; dagegen ist in diesem die Streuung in den übrigen Schichten geringer.

4. Zusatz von Hyaluronidase

Versuche, durch Zusatz von Hyaluronidase (Kinetin^R) die Viscosität des Sternalpunktates zu verringern und dadurch Schichtungen mit geringerer Streuung zu erhalten, eventuell auch eine bessere Auflockerung der kernhaltigen Zellen auf dem Objektträger zu erzielen, verliefen zunächst erfolgversprechend. Zwei Versuche dieser Art an jeweils dem gleichen Punktat zeigt die folgende Übersicht:

(I)		A	B	C	D
ohne Kinetin	$\bar{x}$	41,8	5,0	46,0	7,7
mit Kinetin	$\bar{x}$	43,6	8,3	45,9	2,3
	$p <$	0,001	0,001	-	0,001
ohne Kinetin	s	1,37	1,43	2,24	1,71
mit Kinetin	s	0,25	0,12	0,75	0,18
	$p <$	0,01	0,01	-	0,01

(II)		A	B	C	D
ohne Kinetin	$\bar{x}$	30,6	5,6	58,8	5,9
mit Kinetin	$\bar{x}$	31,4	3,2	62,6	2,4
	p <	-	0,001	0,001	0,001
ohne Kinetin	s	1,19	0,76	2,24	1,06
mit Kinetin	s	0,73	0,44	0,81	0,38
	p <	-	-	0,01	0,01

Im Versuch (I) war die Spritze vor der Aspiration des Markes mit 150 IE Kinetin^R, gelöst in einem Tropfen Aqua dest., beschickt worden, im Versuch (II) wurde die gleiche Menge ohne Wasserzusatz verwendet.

Die Höhe der einzelnen Schichten differiert mit Ausnahme von C (I) und A (II) signifikant. Da im ersten Versuch trotz der Verwendung von etwas Wasser zum Auflösen des Kinetins^R die Plasmaschicht unverändert ist, kann der höhere Prozentanteil der Erythrocytenschicht A möglicherweise durch Wasseraufnahme der Erythrocyten (hypotonische Tendenz) erklärt werden. Eine Ursache für die Unterschiede bei Schicht B ist nicht erkennbar; im ersten Kinetin^R-Versuch ist sie größer, im zweiten kleiner als in der Kontrolle. Die Fettschicht D dagegen ist bei Zusatz von Kinetin^R in beiden Versuchen geringer, so daß eine Hyaluronidasewirkung wahrscheinlich ist. Für alle Schichten ergibt sich eine wesentlich geringere Streuung bei Kinetin^R-Zusatz, gesichert für A (I), B (I), C (II) und D (I,II). Wegen der aus diesen Versuchen ersichtlichen Verringerung der Streuung nach Kinetin^R-Zusatz wurde bei weiteren an Versuchshunden durchgeführten Sternalpunktionen neben Heparin auch Kinetin^R in Substanz (150 IE) vor dem Ansaugen in die Spritze gegeben. Nach Abschluß der Versuchsreihe ergab sich aus dem Vergleich von 12 Punktaten (94 Hämatokrits) ohne und 6 Punktaten (34 Hämatokrits) mit Hyaluronidasezusatz wider Erwarten ein anderes Bild:

		A	B	C	D
ohne Kinetin	s	2,04	2,34	2,46	1,42
mit Kinetin	s	2,74	2,56	2,74	1,89
	p <	0,05	-	-	0,05

Vergleicht man die Plasmasäule des Bluthämatokrit mit der des Knochenmarkshämatokrit, so ergibt sich erwartungsgemäß, daß die Plasmasäule im Blut einen größeren Anteil ausmacht als im Knochenmark, bei dem ein gewisser Prozentsatz des Gesamtvolumens durch die Fettschicht und die größere Menge an kernhaltigen Zellen in Anspruch genommen wird. Die Differenz betrug ohne Verwendung von Kinetin^R für den Knochenmarkshämatokrit 6,13 % ($p < 0,002$), bei Kinetin^R-Zusatz jedoch nur 0,86 %. Daraus folgt, daß bei Gebrauch von Hyaluronidase vermehrt Plasma zwischen den Zellen festgehalten wird (trapped plasma).

Wegen dieser Ergebnisse wurde im weitere Verlauf der Untersuchung auf den Kinetin^R-Zusatz verzichtet.

5. Untersuchung des Punktates aus verschiedenen Segmenten ----- des Brustbeins mittels Hämatokrit -----

Um festzustellen, ob sich beim gleichen Hund am Hämatokrit Unterschiede in der Knochenmarkszusammensetzung verschiedener Bezirke des Sternums erkennen lassen, wurde bei einigen Tieren unmittelbar nacheinander im 2., 5. und 7. Sternebrum punktiert. Die Punktion am cranialen Ende des Brustbeins ist technisch am leichtesten, da der Brustkorb dem notwendigen Druck der Kanüle eine gute Festigkeit entgegensetzt. Weiter nach caudal wird die Punktion schwieriger wegen des elastischen Zurückweichens des Sternums.

In 14 Versuchen, die drei genannten Segmente zu punktieren, gelang die Aspiration von Mark im 2. Segment jedesmal, im 5. Segment nur siebenmal und im 7. Segment zwölfmal.

Wegen der geringen Zahl gelungener Punktionen im 5. Segment konnten statistisch nur die Hämatokrit-Werte des 2. und 7. Segmentes miteinander verglichen werden. Die mittlere Differenz ($\bar{d}_{7.-2.\text{Segment}}$) betrug für die einzelnen Schichten:

	Glaskapillare $\bar{d}$ (%)	Polyaethylenschlauch $\bar{d}$ (%)
A	+ 1,77	- 0,36
B	- 0,59	+ 1,24
C	- 2,58 ($p < 0,02$)	- 2,18
D	+ 1,62	+ 2,46

Übereinstimmend war in Glaskapillaren und Polyaethylenschläuchen die Plasmaschicht (C) im 7. Segment durchschnittlich prozentual geringer und die Fettschicht (D) höher als im 2. Segment. Die Streuung war jedoch so groß, daß nur die Plasmadifferenz in Glaskapillaren statistisch gesichert ist.

Die folgenden Auswertungen beziehen sich stets auf die aus dem Hämatokrit des 2. Segmentes gewonnenen Ergebnisse.

6. Ausstriche vom Knochenmarkshämatokrit

Von den vier Schichten, die sich im Knochenmarkshämatokrit absetzen, sind die Erythrocytenschicht, die Plasmaschicht und die Fettschicht homogen; die Schicht der kernhaltigen Zellen, die sich aus vielerlei Zellen zusammensetzt, bietet sich für eine genauere mikroskopische Untersuchung an. Von jedem Punktat wurden daher Ausstriche der Schicht B in der oben angegebenen Weise hergestellt. Die Schwierigkeit, die beim Zentrifugieren zusammengepreßten Zellen auf dem Objektträger mit Plasma wieder gleichmäßig zu vermischen, spiegelt sich in der Qualität der Ausstriche wider. Gewöhnlich bleibt die Mehrzahl der Zellen in optisch dichten Haufen zusammen und fällt deshalb für eine Differenzierung aus (Abb. 3).

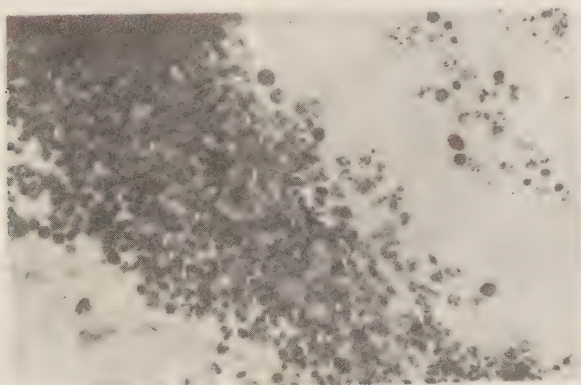


Abb. 3
Ausstrich der Schicht kernhaltiger Zellen aus dem Knochenmarkshämatokrit des Sternalpunktates; Pappenheimfärbung; Übersicht; Ok. 12,5; Obj. 40

In fast jedem Präparat finden sich jedoch Stellen, die differenziert werden können. Wie zu erwarten, entspricht das Zellbild in der Zusammensetzung hier im wesentlichen dem Bild, das man im direkten Ausstrich des Sternalpunktates findet. Man erkennt jedoch vielfach, daß die kernhaltigen Zellen gelitten haben. Neben zerstörten Zellen sieht man vakuolisierte, die Kerne wirken zum Teil gequollen. Daneben kommen aber auch Zellen ohne erkennbare morphologische Abweichung vor. Auf eine systematische Differenzierung der kernhaltigen Zellen wurde verzichtet, da sie gegenüber der im direkten Ausstrich keine Vorteile bietet.

Dagegen wurden die Erythrocyten einer genaueren Analyse unterworfen. Die roten Blutkörperchen in der Schicht B sind eine spezifische Auswahl aus der Erythrocyten-Population des Marksaftes. Hier reichern sich die leichten Erythrocyten an. Man kann dabei morphologisch drei Hauptformen unterscheiden: Erythrocyten mit gleichmäßig verteiltem Hämoglobin, die wie runde Scheiben aussehen, blasse Erythrocyten, bei denen das Hämoglobin vornehmlich am Rande gelagert ist, während das Zentrum hell und oft eingedellt erscheint (sog. Cups, Abb. 4)

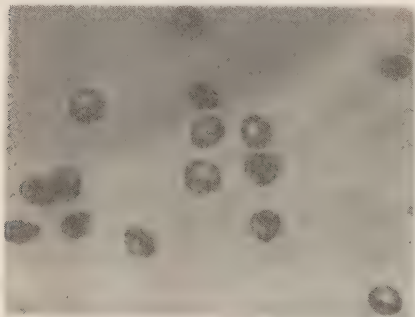


Abb. 4
Cup-förmige Erythrocyten
im Sternalpunktat; Ok. 12,5;
Obj. 100; Pappenheimfärbung

und Zellen, die eine mehr oder weniger ausgeprägte Blaufärbung erkennen lassen (polychromatische Erythrocyten, Abb. 5).



Abb. 5
Polychromatische Erythrocyten im Sternalpunktat;
Ok. 12,5; Obj. 100; Pappenheimfärbung

Für jedes Punktat wurde das prozentuale Verhältnis dieser Erythrocytentypen zueinander an einer Stichprobe von jeweils 500 bis 1000 Erythrocyten der Schicht B festgestellt.

7. Vergleich zwischen Blutbefunden und Knochenmarkshämatokrit

a.) In Abbildung 6 sind auf der Abszisse Werte der Erythrocytenschicht (A) vom Knochenmarkshämatokrit abgetragen und auf der Ordinate Hämatokrit-Werte des dazugehörigen Blutes. Man erkennt eine gleichsinnige Korrelation. Die dem Punkteschwarm optimal angepaßte Gerade folgt der Gleichung $Y = 0,764 x + 19,39$; der Korrelationskoeffizient $r = + 0,689$ ist statistisch gesichert ($p < 0,001$).

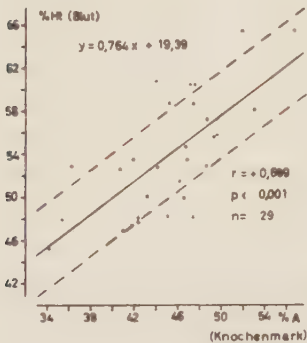


Abb. 6
Beziehung zwischen Knochen-
marks- und Bluthämatokrit
Abszisse: Prozentwert des
Erythrocytenvolumens (Schicht A)
im Hämatokrit des Sternal-
punktates; Ordinate: Hämato-
kritwert des Blutes; r: Kor-
relationskoeffizient

Das Ergebnis ist erklärlich, wenn man eine Beimischung von peripherem Blut im Sternalpunktat annimmt. Dabei käme der für das periphere Blut typische Hämatokrit-Wert auch im Sternalpunktat des betreffenden Hundes zur Auswirkung.

b.) In Abbildung 7 sind die Fälle nach den im Blut erhobenen Hämoglobin-Werten geordnet und in zwei Gruppen eingeteilt, in der einen sind die Fälle mit weniger (A), in der anderen die mit mehr (B) als 19 g% Hämoglobin. Darunter sind der MCHC-Wert der Blut-Erythrocyten und die Reticulocyten-Zahl im Blut für

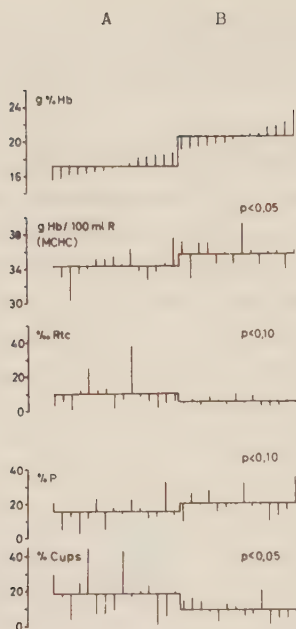


Abb. 7

Anordnung der Statistiken von Versuchshunden nach dem Hämoglobingehalt des Blutes

Gruppierung in Statistiken mit weniger (A) und mehr (B) als 19 g% Hämoglobin. Die Horizontalen geben die Mittelwerte für jedes Merkmal in den Gruppen an.

Hb = Hämoglobin; MCHC = mittlere corpusculäre Hämoglobinkonzentration; Rtc = Reticulocyten pro 1000 Erythrocyten des Blutausstriches; P = Anteil der polychromatischen Erythrocyten, Cups = Anteil der cup-förmigen Erythrocyten an den leichten Erythrocyten des Knochenmarkshämatokrit; p = Irrtumswahrscheinlichkeit der Mittelwertsdifferenz

die entsprechenden Fälle angegeben. Dann folgen der Prozentsatz an polychromatischen Erythrocyten und schließlich der der Cups in der Schicht B des Knochenmarkshämatokrit.

Der Einteilung wurde der Hämoglobin-Wert zu Grunde gelegt, weil die Hämoglobin-Bestimmung am sichersten Auskunft darüber

gibt, wieviel Blutfarbstoff die Einheit Blut für die Atmung zur Verfügung stellt. Der MCHC-Wert, die mittlere corpusculäre Hämoglobin-Konzentration, bezeichnet die Farbinintensität des Durchschnitts-Erythrocyten; je höher der Wert, desto mehr rot gefärbt sind die Erythrocyten. Die Reticulocyten-Zahl im Blut ist abhängig vom Nachschub junger Erythrocyten aus dem Knochenmark.

Die Hämoglobin-Mittelwerte betragen 17,2 g% für Gruppe A und 20,7 g% für Gruppe B. Wie man sieht, ist der MCHC-Mittelwert von Gruppe B signifikant höher als in Gruppe A ($p < 0,05$). In Gruppe A kommen Reticulocyten-Werte über 10% fünfmal vor, so daß sich ein Mittelwert von 9,9 % ergibt, während für Gruppe B 5,5 % als Mittelwert resultiert. Obwohl die Hämoglobin-Werte in beiden Gruppen sich im Rahmen des Normalen halten, unterscheiden sich die Gruppen doch im Hinblick auf die mittlere Qualität der Erythrocyten. Im hämoglobinärmeren Blut sind die Erythrocyten im Durchschnitt blasser und ein verstärkter Nachschub von jungen Erythrocyten aus dem Knochenmark ist häufiger als im hämoglobinreicheren Blut. Vergleicht man dazu die entsprechenden Gruppenmittelwerte für den Prozentsatz der polychromatischen Erythrocyten und der Cups in Schicht B des Knochenmarkshämatokrit, so deutet sich, allerdings statistisch nicht gesichert, ein durchschnittlich höherer Anteil von polychromatischen Erythrocyten im Knochenmark an. Signifikant geringer als in Gruppe A ist der Mittelwert des Prozentsatzes der Cups in der Gruppe B mit den höheren Hämoglobin-Werten.

In Abbildung 4 waren die von Versuchshunden stammenden Staten nach dem Hämoglobin-Wert geordnet. Eine andere Einteilung, unter Einschluß der von Patienten gewonnenen Daten, zeigt Abbildung 8. Sie geht davon aus, daß die Zahl der im Blut auftretenden Reticulocyten ein Maß für den Ausstoß junger Erythrocyten in der Peripherie ist und deutet den prozentualen Anteil an polychromatischen Erythrocyten in der Schicht B der kernhaltigen Zellen des Knochenmarkshämatokrit als Gradmesser der Reserve an jungen ausschwemmungsfähigen roten Blutkörper-

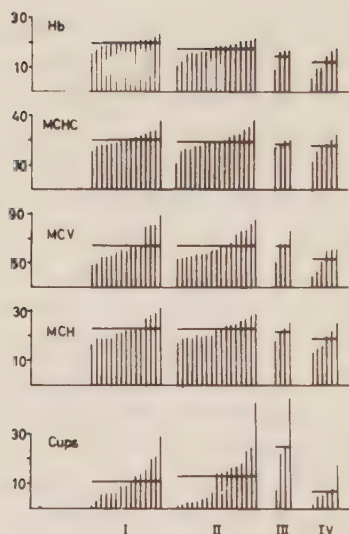


Abb. 8

Gruppierung der Fälle nach dem Vorkommen von unreifen Erythrocyten

Polychromatische Erythrocyten und Cups in Prozent der Erythrocyten im Ausstrich der Schicht der kernhaltigen Zellen vom Knochenmarkshämatokrit, Reticulocyten in Promille der Erythrocyten des Blutausstriches.

- I 16 % oder mehr polychromatische Erythrocyten im Sternalmark und weniger als 10 ‰ Reticulocyten im Blut
- II 15 % oder weniger polychromatische Erythrocyten im Sternalmark und weniger als 10 ‰ Reticulocyten im Blut
- III 16 % oder mehr polychromatische Erythrocyten im Sternalmark und mehr als 11 ‰ Reticulocyten im Blut
- IV 15 % oder weniger polychromatische Erythrocyten im Sternalmark und mehr als 11 ‰ Reticulocyten im Blut

Hb = Hämoglobin in g%; MCHC = mittlere corpusculäre Hämoglobinkonzentration der Erythrocyten in g/100 ml Erythrocyten; MCV = mittleres Erythrocytenvolumen in μ^3 ; MCH = mittlerer corpusculärer Hämoglobingehalt der Erythrocyten in $\mu\mu\text{g}$; Cups = hämoglobinarmer Erythrocyten mit ringförmig-peripherer Lagerung des Blutfarbstoffes in %; Horizontale = Mittelwerte der Merkmalswerte

chen im blutbildenden Organ.

Zur Gruppierung der Fälle in solche mit normaler und erhöhter Zahl unreifer Erythrocyten im Blut wurde der Reticulocyten-Grenzwert bei 10 % festgesetzt. Als Grenzwert für den Bestand an polychromatischen Erythrocyten in Schicht B des Knochenmarkes wurde der Zentralwert (Weber) 15 % benutzt. Danach wurden die Staten in vier Gruppen unterteilt: (I) normaler Anteil von Reticulocyten im Blut (10 % und weniger) bei reichlicher Reserve im Knochenmark (Polychromatische 16 % und mehr); (II) normaler Anteil von Reticulocyten im Blut bei geringer Reserve im Mark (Polychromatische 15 % und weniger); (III) gesteigerte Ausschüttung von jungen Erythrocyten ins Blut (Reticulocyten 11 % und mehr) bei reichlicher Knochenmarksreserve (Polychromatische 16 % und mehr) und (IV) gesteigerte Abgabe von jungen Erythrocyten bei geringer Reserve im Knochenmark.

Vergleicht man weitere das rote Blutbild betreffende Merkmalswerte dieser Gruppen, so zeigt sich eine gewisse Tendenz, die an den einzelnen Gruppenmittelwerten zum Ausdruck kommt. Allerdings bedingt die Streuung dieser Werte in den Gruppen wegen der relativ geringen Zahl der Fälle eine mangelhafte statistische Sicherheit. Abbildung 8 gibt die Einzelwerte, gruppiert und nach der Größe geordnet, wieder. (Untereinander dargestellte Werte gehören demnach nicht zusammen.)

Die Mittelwerte stellen sich wie folgt dar:

	n	Hb	MCHC	MCV	MCH	Cups	
I	15	19,8	35,3	64	23	11	Polychr. reichl., Retic. vermehrt
II	17	17,4	34,8	64	23	13	Polychr. wenig, Retic. normal
III	4	14,6	34,4	64	22	25	Polychr. reichl., Retic. vermehrt
IV	6	12,3	33,8	53	19	7	Polychr. wenig, Retic. vermehrt

Die in der vorstehenden Tabelle gebrauchten Abkürzungen haben folgende Bedeutung: n = Anzahl der untersuchten Fälle; Hb = Hämoglobin in g%; MCHC = mittlere corpusculäre Hämoglobinkonzentration der Erythrocyten in g/100 ml Erythrocyten; MCV = mittleres Erythrocytenvolumen in μ^3 ; MCH = mittlerer corpusculärer Hämoglobingehalt der Erythrocyten $\mu\mu\text{g}$; Cups = hämoglobinarne Erythrocyten mit ringförmig-peripherer Lagerung des Blutfarbstoffes in %.

Der höchste Mittelwert für Hämoglobin ergibt sich mit 19,8 g% für die Gruppe I. Er ist signifikant höher als in Gruppe II ($p < 0,05$). Etwas höher als in Gruppe II ist in Gruppe I auch der mittlere MCHC - Wert. Die übrigen Werte sind ähnlich. Es ist einleuchtend, daß die Gruppe, die ohne vermehrte Ausschüttung von jungen Erythrocyten ins Blut über einen relativ großen Vorrat an jungen Zellen im Knochenmark verfügt, Tiere betrifft, die durch ein hämoglobinreiches Blut gekennzeichnet sind. Bemerkenswert ist, daß der Hämoglobin-Mittelwert 17,4 in einer Gruppe zustande kommt, die, gemessen an der Reticulocytenzahl, der Gruppe I entspricht, sich jedoch durch eine geringere Reserve an polychromatischen Markerythrocyten von ihr unterscheidet.

Eine Leerung der Depots durch Abgabe von jungen Erythrocyten an die Peripherie ist angesichts der normalen Zahl von Reticulocyten im Blut nicht wahrscheinlich. Eher ist zu vermuten, daß eine mangelhafte Bildung von polychromatischen Erythrocyten im Knochenmark vorliegt. Die im Mittel etwas niedrigere Hämoglobin-Konzentration der Erythrocyten (MCHC - Wert) im Vergleich zur Gruppe I ist statistisch nicht gesichert. Immerhin zeigte sich auch bei der Anordnung der Fälle nach dem Hämoglobin-Gehalt (Abb. 7), daß die hämoglobinärmeren Staten eine geringere Prozentzahl der polychromatischen Erythrocyten im Mark und einen im Durchschnitt niedrigeren MCHC - Wert gemeinsam hatten. Ein Zusammenhang beider Merkmale ist denkbar. Er könnte bedeuten, daß eine Hemmung der Erythropoiese vorliegt, bei der Erythrocyten mit geringerer Hämoglobin-Konzentration auftreten.

Die Gruppen III und IV haben gegenüber den anderen deutlich erniedrigte Hämoglobin-Mittelwerte. In beiden Gruppen ist die Reticulocytenzahl im Blut erhöht. Allein nach dem Hämoglobin-Gehalt des Blutes würde nicht in allen Fällen dieser Gruppen auf eine Anämie geschlossen worden sein, jedoch spricht die erhöhte Reticulocyten-Zahl für eine Beanspruchung von Reserven und damit für eine anämische Tendenz.

Die Gruppen unterscheiden sich in Bezug auf die Reserven an

unreifen Erythrocyten im Knochenmark: Gruppe III hat einen relativ reichlichen, Gruppe IV einen geringeren Vorrat an polychromatischen Erythrocyten. Von der Regulation her gesehen sind die Hunde der Gruppe III mithin besser gestellt als die der Gruppe IV. Die bei Gruppe IV am Mittelwert gemessene niedrigere Hämoglobin-Konzentration des Durchschnitts-Erythrocyten (MCHC - Wert) und die im Mittel geringere absolute Hämoglobinmenge pro Erythrocyt (MCH - Wert) können in diesem Sinne zu deuten sein. Da die hier festgestellten Mittelwertsunterschiede statistisch infolge des geringen Umfanges der Gruppen nicht gesichert sind, ist eine derartige Interpretation natürlich nur unter Vorbehalt möglich.

Mit $p < 0,05$ gesichert ist dagegen die Mittelwertsdifferenz des Prozentsatzes der Cups im Sternalpunktat für die Gruppen III und IV. Die Cup-Formen der Erythrocyten werden zu den sog. Leptocyten gerechnet, blassen, d. h. hämoglobinarmer Zellen, die nach S c h a l m (1965) bei Anämien vermehrt gefunden werden können. R ü d i g e r (1964) diskutiert die Frage, ob es sich bei den Leptocyten um von Anfang an hämoglobinarmer Zellen handelt oder um Erythrocyten, deren Blässe durch Wasseraufnahme in einem prähämolytischen Altersstadium hervorgerufen ist und hält beides für möglich. Dem vorliegenden Befund nach sind Cups bei anämischer Tendenz mit reichlichem Vorrat an polychromatischen Zellen im Sternalmark häufiger als bei geringer Reserve an jungen Erythrocyten.

c.) Weitere Abhängigkeiten zwischen den im Blut bestimmten Werten und den Ergebnissen des Knochenmarkshämatokrits ergaben sich nicht. Geprüft wurden der Anteil der Schicht B in Zusammenhang mit der Zahl der Neutrophilen und Eosinophilen im Blut sowie dem Kernverschiebungsindex der Blutneutrophilen. Nicht gesichert ($p < 0,1$) war auch die Mittelwertsdifferenz zwischen den Schichten C und D des Knochenmarkshämatokrit einerseits und dem Plasmavolumen im Blut andererseits bei Gruppierung der Fälle nach dem Blutplasmavolumen.

IV. Besprechung der Befunde

Die beschriebenen Untersuchungen befaßten sich zunächst mit der Technik des Knochenmarkshämatokrit. Dabei wurde auf die Anwendung des W i n t r o b e - Verfahrens zugunsten der Zentrifugierung in Kapillaren verzichtet, um mit einer möglichst geringen Menge von Punktat auszukommen. Es gelingt zwar ohne weiteres, beim Hund genügend Marksaft zu aspirieren, um ein W i n t r o b e - Röhrchen damit zu füllen, jedoch ist bekannt, daß der Anteil des Punktates an Sinusblut mit der Menge des Punktates zunimmt, wodurch der Anteil an Markparenchym unzuwiewmäßig verdünnt wird.

Im Gegensatz zum Hämatokrit-Röhrchen nach W i n t r o b e , das einen festen Boden besitzt, muß die Kapillare vor oder nach der Füllung verschlossen werden. Zuschmelzen vor dem Einfüllen bedingt Verluste beim Einbringen des Punktates, die sich vermeiden lassen, wenn die Kapillare bei der Füllung beiderseits offen ist. Der nachfolgende Verschluß mit Kitt hat sich bewährt.

Die Verwendung von Polyäthylenschläuchen anstelle von Glaskapillaren ist möglich, bringt aber keine prinzipiellen Vorteile. Die Ablesungsergebnisse beider Verfahren differieren systematisch.

Unerwartet traten beim Hämatokrit-Verfahren des Markpunktates in Kapillaren Schwierigkeiten auf, die nach Literaturangaben beim W i n t r o b e - Verfahren entfallen. Gelegentlich ist die Schichtung in einer Kapillare unzureichend; Markpartikel bleiben innerhalb des Plasmavolumens in der Schwebe. Die Ursache ist vermutlich der Einschluß von Parenchymzellen in ein Fettzellen enthaltendes Stützgerüst, das dem Zellkomplex ein geringes spezifisches Gewicht verleiht. Das Vorkommen macht die genaue Ablesung des Hämatokrit unmöglich. Es ist deshalb zweckmäßig, von jedem Punktat zugleich mehrere Kapillaren zu füllen.

Tourenzahl und Zeitdauer der Zentrifugation, die für eine zu-

verlässige Volumensbestimmung der Knochenmarkanteile notwendig sind, bringen eine Kompression der kernhaltigen Zellen mit sich, die eine spätere Auflockerung zum Zweck der Anfertigung eines Ausstriches größtenteils unmöglich macht. Verschiedene Versuche, dem Abhilfe zu schaffen, waren vergeblich. Auch zeigte sich, daß die Zellen nach der Zentrifugierung morphologisch bereits beeinträchtigt sind. Das Mikro-Hämatokrit-Verfahren in der hier praktizierten Weise kann für die cytologische Untersuchung der Parenchymzellen nicht empfohlen werden. Dieses, im Hinblick auf das ursprüngliche Ziel der Arbeit enttäuschende Ergebnis wurde nicht vorhergesehen, da eine entsprechende Bearbeitung der Leukocytschicht des Bluthämatokrit ausgezeichnete Präparate liefert.

Der Knochenmarkshämatokrit unterscheidet sich darin von dem des Blutes, daß regelmäßig eine leichte Hämolysse im Plasma wahrnehmbar ist. Der Anteil fragiler Erythrocyten im Knochenmark, sei es im Markparenchym oder im Sinusblut, ist demnach größer als im peripheren Blut.

Die Prüfung der Frage, ob der Ort der Sternalpunktion von Bedeutung für den Ausfall des Hämatokrit sei, ergab, daß ein wesentlicher Unterschied zwischen dem zweiten und dem siebenten Sternebrum nicht besteht. Da sich das craniale Ende des Brustbeins besser zur Punktion eignet als die caudalen Abschnitte, wurde an der Punktion des cranialen Brustbeinteiles festgehalten.

Ein als vorläufig anzusehender Normbereich für die Daten des Knochenmarkshämatokrit wurde nicht vom arithmetischen Mittel der bei den Versuchshunden gewonnenen Ergebnisse abgeleitet, sondern vom Bereich der größten Häufigkeiten. Gegenüber den beim Menschen gefundenen Werten fällt beim Hund das Fett- und das Erythrocytenvolumen etwas größer, das Plasmavolumen etwas geringer aus. Die Schicht der kernhaltigen Knochenmarkszellen bewegt sich beim Hund offenbar in weiteren Grenzen als beim Menschen.

Die Auswertung galt dann der Suche nach Beziehungen zwischen

Ergebnissen des Knochenmarkshämatokrit und dem Blutstatus. Es ließ sich zeigen, daß die Höhe der Erythrocytensäule in Mark- und Bluthämatokrit im großen ganzen parallel geht. Nach R o h r hat man sich den Gefäßapparat des Knochenmarkes als ein geschlossenes, mit dem Markparenchym nicht in direkter Verbindung stehendes System vorzustellen. Es sind stark verzweigte Sinus ausgebildet, die eine Art "rete mirabile" bilden und über Venen und Arterien an den peripheren Kreislauf angeschlossen sind. Damit ist nicht gesagt, daß in den Sinus und im peripheren Blut die gleiche cytologische Zusammensetzung vorliegen muß. Immerhin spricht die Kongruenz der Erythrocytenmengen in dem mit Sinusblut durchmischten Markpunktat und im venösen Blut für die Enge der Beziehung.

Diese Abhängigkeit macht die Bestimmung des Erythrocyten-Volumens im Markhämatokrit zu einem wenig aussagekräftigen Kriterium des Punktates. Dagegen läßt sich die Schicht der kernhaltigen Zellen dazu verwenden, die dieser stets beigemischten spezifisch leichten Erythrocyten morphologisch zu differenzieren. Der prozentuale Anteil der polychromatischen Erythrocyten und derjenigen Formen, bei denen Hämoglobin vorwiegend ringförmig am Rande eingelagert ist (hier als "Cups" zusammengefaßt), wurde bestimmt und ließ Zusammenhänge mit den entsprechenden Blutstaten erkennen. So zeigte sich, daß bei der Gruppierung von Blutstaten nach deren Hämoglobingehalt den hämoglobärmeren überwiegend ein geringerer Prozentsatz an polychromatischen Erythrocyten im Knochenmarkshämatokrit zugeordnet war, während der Anteil der Cups im Mittel höher war als bei den hämoglobinreicheren Stat en.

Dieses Ergebnis wurde von den Stat en der Versuchshunde gewonnen und zeigt, daß innerhalb einer Gruppe von Hunden mit Hämoglobinwerten, die als normal angesehen werden, sich sowohl im Blut (MCHC, Reticulocyten) als auch im Sternalpunktat (polychromatische Erythrocyten, Cups) mit dem Hämoglobinwert korrespondierende Unterschiede vorfinden können. Eine niedrige mittlere Hämoglobinkonzentration der Erythrocyten (MCHC) und

erhöhte Reticulocytenwerte sind bei Anämien mit gesteigerter Regeneration häufig. Dabei sind im Blut regelmäßig auch die polychromatischen Erythrocyten vermehrt. Eine entsprechende Tendenz liegt den hämatologischen Daten nach auch bei einem Teil der Fälle in der Gruppe mit den niedrigen Hämoglobinwerten vor. Dazu paßt auch der im Durchschnitt geringere MCHC-Wert dieser Gruppe. Auffallend ist, daß hier der Wert der polychromatischen Erythrocyten des Sternalpunktates niedriger ist als bei den hämoglobinreichen Staten. Dies war der Anlaß, unter Einbeziehung der Patienten eine andere Gruppierung zu versuchen, bei der die unreifen Erythrocyten im Knochenmark und im Blut als Kriterium dienten.

Eine Einteilung der Fälle nach der Reticulocytenzahl im Blut und dem Prozentsatz von polychromatischen Erythrocyten im Sternalpunktat führte zu vier Gruppen, die sich im mittleren Hämoglobinwert und in Kennwerten für die Erythrocytenqualität (Hämoglobinkonzentration MCHC; Hämoglobingehalt MCH; Erythrocytenvolumen MCV) zum Teil unterschieden. Es ergaben sich dabei einleuchtende Konstellationen des roten Blutbildes: Fälle mit nicht beanspruchter, reichlicher Knochenmarksreserve an jungen Erythrocyten hatten durchschnittlich hämoglobinreiches Blut und gut mit Hämoglobin versehene Erythrocyten (I). War, bei zunächst noch reichlicher Reserve, ein vermehrter Ausstoß von jungen Blutkörperchen in die Peripherie nachweisbar, so lag dabei ein im Durchschnitt erniedrigter Hämoglobinwert und eine im Vergleich zur vorher genannten Gruppe verminderte Hämoglobinbeladung der Erythrocyten im Blut vor (III). Noch deutlicher treten diese Erscheinungen auf, wenn die Reserve im Mark gemindert war (IV). Diese Blutbilder, aneinandergereiht entsprechen dem Vorgang bei einer progredient bedrohlicher werdenden Anämie.

Daneben steht eine Gruppe von Staten, (II), bei der im Knochenmark wenig polychromatische Erythrocyten vorhanden waren und aus der Reticulocytenzahl eine vermehrte Abgabe von jungen Erythrocyten ins Blut nicht ersichtlich ist. Das rote Blutbild dieser Tiere steht dem der ersten Gruppe nahe, ist jedoch im

Hämoglobin- und MCHC-Wert durchschnittlich etwas niedriger. Da mit dieser Minderung keine Zeichen einer gesteigerten Regeneration einhergehen, ist an eine Hemmung der Erythropoiese zu denken.

Die Tatsache, daß sich bereits in einem so kleinen Material, wie es hier vorliegt, Tendenzen zeigen, die zwar nur zum Teil statistisch gesichert sind, sich jedoch sinnvoll in unser Bild von bekannten Anämieformen einfügen, läßt die Hoffnung zu, mit Hilfe von größerem Untersuchungsgut zu einer besser als bisher fundierten Charakterisierung der Anämien zu kommen. Die Bedeutung der nichtpolychromatischen, hämoglobinarmlen Erythrocyten, die hier unter der Bezeichnung Cups zusammengefaßt werden, ist noch nicht klar. Der Befund, daß sich die Gruppen III und IV signifikant im prozentualen Anteil der Cups im Sternalpunktat unterscheiden, macht wahrscheinlich, daß auch dieses Kriterium sich für eine Differenzierung der Anämien verwenden läßt. Bemerkenswert ist schließlich, daß auch in Gruppen mit anämischer Tendenz im Blut Hämoglobinwerte vorkommen, die noch im mittleren Normbereich liegen. Daran läßt sich erkennen, daß es nicht gerechtfertigt ist, nur auf Grund des Hämoglobinwertes eine Anämie, bzw. eine anämische Tendenz anzunehmen oder abzulehnen.

V. Zusammenfassung

An 14 Versuchshunden und 14 Patienten der Klinik wurde das Sternalpunktat mit dem Mikrohämatokrit-Verfahren untersucht. Insgesamt wurden 62 Punktionen durchgeführt, von denen jeweils mehrere Hämatokrit-Kapillaren angesetzt wurden. Von jedem Hund wurde zugleich ein Blutstatus angefertigt, der die Zählung der roten und weißen Blutkörperchen, die Bestimmung der Reticulocytenzahl, das Differentialblutbild, die Hämoglobinbestimmung und die Blutkörperchensenkung umfaßte.

Im einzelnen ergab sich:

- 1.) Mit dem geringsten Verlust an Marksaft lassen sich beiderseits offene Kapillaren füllen, die anschließend einseitig mit Fensterkitt zuverlässig verschlossen werden können.
- 2.) Der Hämatokrit mit Polyäthylenschläuchen bietet gegenüber dem in Glaskapillaren keine wesentlichen Vorteile.
- 3.) Die Zentrifuge trennt das Sternalpunktat der Schwere nach in vier Komponenten, deren Volumenanteil bestimmt werden kann: Erythrocyten (A), kernhaltige Zellen (B), Plasma (C) und Fett (D). Leichte Erythrocyten sind der Schicht der kernhaltigen Zellen stets beigemischt. Teile dieser Schicht bleiben manchmal im Plasma schwebend oder sind mit der Fettschicht verbunden. In diesen Fällen ist der Hämatokrit nicht ablesbar, im Regelfall jedoch mit ausreichender Genauigkeit. In der mittleren Abweichung, die für das gleiche Punktat mit 1,27 (A), 1,73 (B), 2,04 (C) und 1,54 (D) bestimmt wurde, drückt sich nicht nur die Ablesungs- Ungenauigkeit aus, sondern auch die Inhomogenität des Marksaftes. Als vorläufiger Normbereich wurde anhand der Punktate der Versuchshunde festgestellt:
A 42 - 50 %; B 3 - 8 %; C 38 - 50 %; D 1 - 5 %.
- 4.) Durch Übertragung der Schicht B auf Objektträger lassen sich Ausstriche herstellen, die jedoch keine guten Zellbilder liefern, da der Zellpfropf sich nach der Kompression beim Zentrifugieren nur schwer wieder auflockern

läßt; die Zellen bleiben zum großen Teil verklumpt. Der Ausstrich läßt sich jedoch dazu benutzen, die beigemischten leichten Erythrocyten zu differenzieren. Der prozentuale Anteil der hier angereicherten polychromatischen Erythrocyten und der sog. Cup-Formen wurde bestimmt.

- 5.) Das Erythrocytenvolumen im Knochenmarkshämatokrit (Schicht A) ist positiv mit dem Hämatokrit-Wert des Blutes korreliert.
- 6.) Ein Zusammenhang zwischen dem Plasmavolumen von Sternalpunktat und Bluthämatokrit war nicht zu sichern. Zwischen dem Volumenanteil der Schicht B und der Zahl der Neutrophilen bzw. deren Kernverschiebungsindex war eine numerische Beziehung nicht zu erkennen.
- 7.) Die Gruppierung der Staten nach dem Anteil der polychromatischen Erythrocyten im Sternalpunktat und der Reticulocytenzahl im Blut gab Hinweise für eine Einteilung anämischer Zustände im Hinblick auf das Verhältnis von Reserve und Ausschüttung junger Erythrocyten.

Tabellarische Zusammenstellung der Befunde

Nr	S	A	B	C	D	Hb	Ht	R	Rtc	W	Eo	N	Ly	Mon	KVI	BKS
9	2	46,5	9,4	42,0	1,7	18,8	50,0	8,4	6	12,0	-	7,5	3,6	0,8	3,8	1
	7	47,8	8,3	39,7	3,8											3
10	2	46,1	15,5	29,9	7,9	19,5	51,6	8,1	5	8,1	-	4,8	2,9	0,4	8,4	1
	7	52,5	10,6	29,7	5,7											2
11	2	49,6	6,0	37,8	6,0	18,3	55,9	7,7	6	12,2	0,4	7,3	3,9	0,5	4,5	1
	5	49,0	8,7	34,7	8,1											2
	7	48,6	9,8	31,8	9,2											
12	2	47,4	6,2	42,4	3,2	17,5	48,2	7,9	38	8,8	-	5,1	3,4	0,4	4,8	1
	7	48,7	6,0	44,0	2,3											2
13	2	45,0	4,2	49,0	1,7	16,4	48,2	6,4	25	11,6	0,7	6,1	4,4	0,5	3,8	1
	5	46,3	7,0	44,2	2,0											1
	7	43,3	12,2	43,8	0,8											
14	2	41,0	2,7	54,0	2,1	16,5	46,9	7,6	12	16,5	4,3	7,4	4,3	0,5	2,2	1
	5	44,0	2,4	51,8	2,1											2
15	2	41,8	5,3	52,3	0,6	15,7	47,4	6,2	6	7,9	0,6	3,8	2,8	0,6	5,1	13
	5	45,2	4,3	50,0	1,2											34
16	2	42,4	5,4	49,6	2,3	16,2	48,2	7,5	12	6,9	0,5	2,0	3,4	1,0	2,2	2
	7	41,1	7,4	45,2	6,0											5
17	2	44,1	11,4	40,0	4,3	19,6	52,9	6,6	8	7,3	0,4	4,9	1,7	0,4	3,8	2
	5	44,5	5,0	40,4	10,8											2
	7	43,0	11,6	36,2	8,6											
18	2	42,4	8,5	41,6	6,0	16,8	47,8	7,4	13	7,3	0,3	4,0	2,5	0,5	2,7	1
	7	42,2	7,1	42,6	7,1											2
19	2	53,0	11,2	33,0	3,6	21,0	58,2	9,5	9	5,1	0,1	3,2	1,4	0,3	5,4	0
	7	53,5	9,8	28,1	8,8											1
20	2	47,4	13,3	24,2	15,1	19,3	58,8	6,9	6	19,3	0,8	14,3	2,1	2,1	3,1	1
	5	48,4	4,7	35,7	12,4											1
	7	55,4	4,4	34,1	6,1											
21	2	43,1	6,4	47,2	3,6	17,2	50,1	8,5	7	10,0	0,4	4,8	3,6	0,8	2,3	0
	7	46,7	3,8	45,6	4,2											1
22	2	34,1	11,1	45,8	9,1	15,6	45,4	7,1	4	10,9	1,2	4,9	4,3	0,5	4,6	2
	5	39,5	9,9	38,9	11,6											5
26	2	52,0	6,0	30,4	11,8	22,3	65,6	10,6	6	13,2	2,4	7,4	2,8	0,6	1,8	0
																1
27	3	56,7	2,7	37,7	2,8	23,7	65,6	10,7	5	12,6	1,3	8,9	1,8	0,6	2,6	1
																2
28	2	40,7	19,5	39,8	-	18,2	53,7	9,4	9	12,5	0,6	5,0	4,2	1,6	1,7	1
																3
29	2	47,1	15,7	37,3	-	21,7	60,5	11,1	3	12,1	1,9	7,7	1,9	0,4	1,9	1
																1
30	2	36,2	22,5	38,2	4,3	20,8	53,0	11,1	5	12,9	0,4	9,3	2,8	0,4	1,8	1

Nr	S	A	B	C	D	Hb	Ht	R	Rtc	W	Eo	N	Ly	Mon	KVI	BKS
31	2	45,2	7,0	44,1	3,4	20,3	58,8	11,9	10	8,1	0,5	3,9	3,4	0,3	5,0	-
32	2	46,8	7,6	41,5	4,4	16,2	53,6	9,6	1	13,6	0,5	6,4	5,8	0,8	6,8	-
33	2	46,7	7,1	44,3	1,9	18,5	54,8	6,4	2	12,0	0,2	8,1	3,1	0,5	8,7	-
34	2	47,6	10,7	42,1	-	21,7	60,5	7,5	3	8,7	2,0	4,3	2,2	0,6	7,2	-
35	2	49,3	2,9	45,5	1,8	19,9	55,7	6,3	4	9,0	0,9	4,8	2,7	0,5	3,5	-
36	2	35,4	26,6	38,0	-	17,0	48,0	5,9	2	8,2	0,2	4,7	3,3	0,8	0,8	-
37	2	44,0	4,7	40,5	11,2	21,0	60,9	10,9	3	10,5	2,2	4,6	2,9	0,7	7,6	0 1
38	2	41,9	3,3	47,3	3,5	18,5	53,5	9,7	5	8,8	0,5	5,6	2,2	0,4	2,1	1 2
39	2	48,6	1,8	49,1	0,7	19,8	57,3	9,6	6	11,3	1,7	4,3	4,5	0,8	5,3	1 1
40	2	48,6	5,1	44,6	0,9	19,5	53,0	8,9	4	11,0	0,9	6,7	3,2	0,2	2,2	-
42	2	11,8	14,1	72,7	1,3	5,6	18,2	3,6	154	86,9	0,9	69,4	5,2	3,5	4,0	5 19
43	2	21,6	8,7	69,0	0,4	9,4	27,9	6,5	17	50,5	-	44,5	5,1	1,0	3,6	69 106
44	2	18,8	21,3	59,9	-	8,9	25,3	5,0	18	25,0	2,5	18,2	3,0	1,0	5,6	89 128
45	2	54,3	8,7	36,5	0,4	20,4	58,7	7,7	2	9,0	-	6,5	1,3	1,2	2,5	1 1
46	2	52,5	4,3	41,5	1,5	20,3	58,6	10,4	2	11,1	0,2	9,0	1,5	0,6	8,0	1 1
47	2	40,8	5,0	53,7	0,5	14,8	45,2	7,6	19	11,6	-	9,3	1,1	1,2	5,7	2 4
48	2	41,6	6,2	52,2	-	16,1	45,7	8,7	2	10,4	0,4	6,4	3,2	0,3	4,2	1 2
49	2	46,6	29,2	24,1	-	20,8	60,0	9,1	9	27,0	-	24,1	0,8	2,2	2,3	1 1
50	2	41,3	2,4	55,4	0,9	15,1	44,5	7,8	2	17,5	0,2	15,2	0,4	1,8	16,4	27 70
51	2	19,8	10,5	69,2	0,5	9,8	28,4	7,4	17	12,1	-	2,1	8,8	0,9	0Seg	98 122
52	2	26,1	44,0	31,3	0,3	15,7	44,0	8,0	1	50,6	-	48,1	1,0	1,5	18,0	18 71
53	2	48,8	10,4	39,3	1,5	19,0	51,8	8,1	4	19,7	0,2	15,7	0,6	3,1	12,3	2 12
54	2	26,6	7,3	65,3	0,8	12,3	34,5	6,1	2	18,3	0,2	15,4	2,0	0,9	1,6	1 4
55	2	27,4	10,5	55,5	0,3	10,5	31,2	5,7	4	29,3	-	26,7	0,9	1,2	8,1	beso

Zeichenerklärung zur Tabelle auf den Seiten 39 und 40

- Nr = laufende Versuchsnummer
S = punktiertes Brustbeinsegment
A = Schicht A des Knochenmarkshämatokrit in Vol.%
B = Schicht B des Knochenmarkshämatokrit in Vol.%
C = Schicht C des Knochenmarkshämatokrit in Vol.%
D = Schicht D des Knochenmarkshämatokrit in Vol.%
Hb = Hämoglobin in g%
Ht = Bluthämatokrit in Vol.%
R = Erythrocyten in Mill./ μ l
Rtc = Reticulocyten pro 1000 Erythrocyten
W = Leukocyten in 1000/ μ l
Eo = Eosinophile in 1000/ μ l
N = Neutrophile in 1000/ μ l
Ly = Lymphocyten in 1000/ μ l
Mon = Monocyten in 1000/ μ l
KVI = Kernverschiebungsindex
BKS = Blukörperchensenkung nach einer und zwei Stunden

VI. Schrifttumsverzeichnis

- Arinkin, M.J. (1929): Die intravitale Untersuchungsmethodik des Knochenmarkes
Fol. hämat. (Leipzig) 38, 233 - 240
- Berman, L. und Axelrod, A.R. Aspiration of sternal bone marrow (1947): Am. J. Clin. Path. 17, 61 - 66
- Berman, L. und Axelrod, A.R. Evaluation of volumetric data obtained (1947): by centrifugation of aspirated sternal marrow of adults
Am. J. Clin. Path. 17, 551 - 557
- Berman, L., Axelrod, A.R., Horan, Th.N., Jacobson, S.D., with cirrhosis of the liver
Sharp, E.A., VonderHeide, E.C. (1949): Blood 4, 511 - 533
- Horn, V., Jahn, U. und Wille, H. (1953): Das Knochenmarkszellbild im Sternalpunktat des gesunden Hundes
Arch. exper. Vet. Med. 7, 177 - 191
- Jones, R.M. (1947): Human sternal bone marrow in hyperthyroid and myxedematous states
Am. J. Med. Sci. 250, 211 - 220
- Limarzi, L.R. (1939): zitiert bei Limarzi und Schleicher
- Limarzi, L.R. und Schleicher, E.M. (1940): The reaction of peripheral blood and bone marrow
J.A.M.A. 114, 1, 12 - 18
- Marmont, A. und Fusco, F. (1951): Quantitative studies on aspirated human bone marrow, with special reference to the hematocrit patterns in major blood disorders
Act. Med. Scand. 139, 387 - 397

- Parwaresch, M.R. (1968): Eine neue Methode zur Anreicherung der Blutleukocyten, besonders der Blutbasophilen
Blut 17, 260 - 265
- Rohr, K. (1960): Das menschliche Knochenmark
Thieme-Verlag, Stuttgart, 3. Aufl.
- Rüdiger, J. (1964): Differenzierung der Erythrocyten des Hundes am supravital gefärbten Blutaussstrich
Berlin FU, Vet.-med. Diss.
- Schalm, O.W. (1965): Veterinary hematology
Lea & Febiger, Philadelphia, 2. Aufl.
- Schleicher, E.M. (1944): The volumetric pattern of aspirated normal sternal marrow of males 18 to 40 years
Am. J. Clin. Path. 14, 3370 - 3379
- Schleicher, E.M. und Sharp, E.A. (1937): zitiert bei Limarzi und Schleicher
- Weber, E. (1967): Grundriß der biologischen Statistik
Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart, 6. Aufl.
- Wintrobe, M.M. (1930): A simple and accurate hematocrit
J. Lab. u. Clin. Med. 15, 287 - 289

Herrn Prof. Dr. H. N i e p a g e danke ich für die Überlassung des Themas und die mir jederzeit bereitwilligst gewährte Unterstützung bei der Auswertung und Darstellung der Untersuchung.

Mein Dank gilt ferner der Medizinisch-technischen Assistentin Fräulein I. H o f m a n n für die phototechnischen Arbeiten und den Angehörigen der Klinik für kleine Haustiere für ihr verständnisvolles Entgegenkommen.

Lebenslauf

Am 10. Dezember 1940 wurde ich, Heide Robl geb. Klünder, als Tochter des Diplom-Bergingenieurs Erich Klünder und seiner Ehefrau Luise, geb. Hildebrandt, in Berlin geboren.

Vom Herbst 1947 bis zum Frühjahr 1948 besuchte ich die 11. Grundschule in Berlin-Siemensstadt, anschließend bis zum Februar 1949 die Volksschule in Fliesteden bei Kölm.

Vom Frühjahr 1949 bis zum 31. März 1953 besuchte ich wieder die 11. Grundschule in Berlin-Siemensstadt. Vom April 1953 an war ich Schülerin der Carl-Friedrich-von-Siemens-Oberschule in Berlin-Siemensstadt, die ich nach bestandener Reifeprüfung im März 1960 verließ. Im April 1960 heiratete ich den Tierarzt Dr. Dieter Robl.

Im April 1962 begann ich mein Studium an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin. Hier bestand ich die tierärztliche Vorprüfung im April 1964 und das Staatsexamen im März 1967. Am 17. Januar 1968 wurde mir die Approbation als Tierarzt erteilt.

